# TOXICIDADE AGUDA DA AMÔNIA TOTAL PARA PÓS-LARVAS DE Macrobrachium rosenbergii EM DIFERENTES NÍVEIS DE SALINIDADES

SANTOS, Luana Cardoso dos<sup>1</sup> BALLESTER, Eduardo Luis Cupertino<sup>2</sup> GERALDO JUNIOR, Edvaldo<sup>3</sup>

#### **RESUMO**

Os compostos nitrogenados apresentam grande importância em sistema de produção de camarões, sendo a Amônia (NH<sub>3</sub>), Nitrito (NO<sub>2</sub>) e Nitrato (NO<sub>3</sub>). Estes podem se acumular no ambiente aquático e atingir níveis prejudiciais ou até mesmo letais. Com isso, monitorar a quantidade de compostos nitrogenados como a amônia e realizar estudos que evidenciam seu efeito sob os animais é de grande interesse. Uma das ferramentas para isso é o teste de toxicidade aguda com base na avaliação da CL50. Ademais, é válido buscar ferramentas que possam auxiliar o desempenho dos organismos aquáticos em cultivo. O presente estudo buscou avaliar o efeito da salinidade em pós-larvas de camarões de água doce, minimizando a toxicidade da amônia. Para isto, foi realizado o teste de toxicidade aguda (CL50-96h) em 540 camarões da espécie *Macrobrachium rosenbergii* com peso médio de 0,13 gramas e comprimento total médio de 2,47 centímetros, divididos em 54 unidades experimentais de dois litros cada. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em desenho fatorial de 3x6, sendo combinadas três salinidades (0, 5 e 10 g/L) com seis concentrações de amônia total (0, 8, 16, 32, 64 e 128 mg.L<sup>-1</sup>), sendo que para cada combinação haviam três repetições. As CL`s 50, para pós larvas de *M. rosenbergii*, em 24, 48, 72, 96 h, e seus respectivos intervalos de confiança (95%), foram estimadas através do "software" Trimmed Spearman Karber method.

PALAVRAS-CHAVE: Aquicultura, Carcinicultura, Macrobrachium rosenbergii, Qualidade de água.

# 1. INTRODUÇÃO

A aquicultura, produção em cativeiro de organismos aquáticos, cresceu cerca de 10% ao ano na década de 90, atingindo uma produção de 45,7 milhões de toneladas em 2000, apresentando assim, um crescimento maior do que qualquer outra atividade de produção animal (FAO, 2012). A carcinicultura compreende ao ramo da aquicultura que atua na produção de camarões. Devido ao seu alto valor econômico, sua produção vem crescendo ano a ano, atingindo em 2014 aproximadamente uma produção de 4,6 milhões de toneladas de camarões marinhos e 500 mil toneladas de camarões de água doce (FAO, 2016), demonstrando o amplo potencial dessa atividade no Brasil.

O Nordeste é considerado o maior produtor nacional de camarão cultivado, com 99,3% da produção do País. A atividade é mais voltada para produção de espécies marinhas, como *Litopenaeus vannamei*, alcançando em 2016 uma produção de 4,1 milhões de toneladas, enquanto as espécies de água doce alcançaram aproximadamente 500.000 toneladas (FAO, 2018). Dentre as espécies

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Acadêmica de Medicina Veterinária. E-mail: luanaecsantos@gmail.com

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Doutor em Oceanografia biológica. E-mail: elcballester@ufpr.br

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup>Mestre em Aquicultura e Desenvolvimento sustentável. E-mail: edvaldogeraldojr@gmail.com

dulcícolas do gênero *Macrobrachium*, a espécie exótica *Macrobrachium rosenbergii* se destacou na produção em água doce (FAO 2016).

Em sistemas de produção, para ter resultados satisfatórios deve ser seguido requisitos básicos em relação ao manejo alimentar e principalmente ao controle da qualidade de água (QUEIROZ, 2012). Dentre esses monitoramentos na qualidade de água, regular a quantidade de compostos nitrogenados, como a amônia total (NH<sub>4</sub><sup>+</sup> + NH<sub>3</sub>), é de extrema importância. Isso por que estão diretamente relacionados com as taxas de produtividades e de sobrevivência dos animais (DUTRA, 2017).

Também, é muito relevante realizar estudos que demonstrem o efeito desses compostos sobre os animais aquáticos e seus níveis de toxicidade (DUTRA, 2017). Uma forma de conseguir essas informações é através de estudos de toxicidade aguda com base da avaliação da CL50 (Concentração Letal para 50% da população exposta) (HODGSON, 2010).

Compreendendo os níveis de tolerância à amônia para camarões de água doce e buscando novos mecanismos para alterá-los, os sistemas de produção podem se aperfeiçoar para potencializar a sobrevivência dos animais (SILVA, 2018). Testes de toxicidade aguda correspondem como um método padrão para quantificar e constatar a relação entre compostos tóxicos e organismos. Objetivo desses testes é determinar o nível em que um composto tóxico promove mortalidade no organismos com base em um determinado período de tempo. O resultado é expresso como CL50 onde é determinado a mortalidade de 50% dos animais (HODGSON, 2010).

As informações obtidas através de estudos para CL50 colaboram para obtenção de valores para diversos níveis de exposição à compostos, possibilitando um aumento na competência em controle da qualidade de água (DUTRA, 2017). Descobertas como essas podem ser de grande valor para produtores, pois ao receberem as pós-larvas na fase de berçário é preciso utilizar tanques com densidades mais elevadas ocasionando maior acúmulo de compostos, que podem atingir níveis tóxicos. Assim, buscar meios para diminuir a toxicidade da amônia e de outros compostos nitrogenados, como a possibilidade da salinidade aumentar a tolerância à amônia, vai impactar diretamente na produtividade e mortalidade da produção de camarões (NEW et al , 2010).

Como o *M. rosenbergii* pode ser criado em água salobra também, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a toxicidade aguda para a determinação da faixa letal da amônia total para a espécie *Macrobrachium rosenbergii* exposta a três diferentes níveis de salinidade (0; 5 e 10 g/L) e a seis concentrações de amônia total (0; 8; 16; 32; 64; 128 mg.L<sup>-1</sup>), compreendendo dessa forma, a relação que ocorre entre a salinidade e a amônia no meio de cultivo.

# 2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A aquicultura é baseada na criação de organismos aquáticos em sistemas confinados e controlados, possibilitando maior segurança alimentar graças às vantagens de oferecer produtos mais homogêneos e rastreabilidade de toda cadeia produtiva (TAVERES-DIAS & MARIANO, 2015). É uma atividade agropecuária que abrange diversas áreas de atuação, a qual vem crescendo exponencialmente no Brasil e no mundo, possibilitando novas oportunidades no mercado (SEBRAE, 2015).

De acordo com dados da FAO (2018) sobre aquicultura, a produção mundial em 2016 foi de 110,2 milhões de toneladas, sendo que, os peixes foram os animais mais produzidos, com 54,1 milhões de toneladas, seguido de algas, com 30,1 milhões de toneladas, moluscos com 17,1 milhões de toneladas e crustáceos com 7,9 de toneladas produzidas. Assim, dentre outros setores de produção de proteína animal, a produção aquícola é o setor com maior crescimento nas últimas décadas.

Os crustáceos abrangem um dos mais variados grupos dos invertebrados, aos quais, dentre eles, a ordem Decapoda compreende o grupo mais bem conhecido graças a sua variedade de espécies como por exemplo, camarões, siris, lagostas e caranguejos; sendo elas representantes terrestres, dulcícolas e marinhas (BOOS; PINHEIRO; MAGRIS, 2016).

Dentre os crustáceos, os camarões são produzidos em larga escala em cativeiro, ganhando destaque quando comparado com a pesca extrativa. De acordo com dados da FAO (2014), referenciando o ano de 2012, a produção de camarão cultivado, no Brasil, no período de 30 anos, cresceu de 88.599 toneladas (1981) para 3.930.059 (2011), ou seja, 4.335,78%. Também, Rocha (2014) declarou que a produção mundial de camarão de cultivo pode duplicar na próxima década, passando de 4 milhões para 8 milhões de toneladas.

Arias (2011), define a carcinicultura como um ramo da aquicultura, voltado para produção de camarões em cativeiro, tanto de camarões de água doce quanto de camarões de água salgada. Esta atividade vem acontecendo na Ásia há centenas de anos, porém está se desenvolvendo de forma exponencial nas últimas três décadas. Em 1980 a produção mundial de camarões em cativeiro foi de aproximadamente cem mil toneladas, enquanto em 2007 passou para mais de 3 milhões de toneladas produzidas, demonstrando que os camarões se tornaram um dos principais produtos da aquicultura, sendo apenas ultrapassados pela Tilápia do Nilo e a Carpa (TAVERES-DIAS & MARIANO, 2015).

No Brasil, a produção de camarões apresentou um crescimento vertiginoso nos últimos anos, pois este representa uma forma de negócio viável e lucrativa, além de representar um sistema de produção sustentável que resulta em um alimento de alto valor nutritivo (ROCHA, 2018). Dados da FAO (2018) demonstram que dentro da carcinicultura, as espécies marinhas são as mais produzidas,

alcançando em 2016 uma produção de 4,1 milhões de toneladas, enquanto camarões de água doce alcançaram aproximadamente 500.000 toneladas. Porém, apesar da menor produção, a produção de camarões de água doce, quando comparada com carcinicultura marinha, se torna mais vantajosa. Isto graças as espécies dulcícolas, quando em cativeiro, apresentarem maior estabilidade de produção, maturação e larvicultura mais simples, possuírem fisiologicamente independência da água salgada na fase de crescimento final (engorda) e serem menos impactantes ao meio ambiente (NEW & VALENTI, 2001).

O gênero *Macrobrachium* é constituído de aproximadamente 246 espécies distribuídas pelo mundo todo, sendo que, 19 destas são encontradas no Brasil (MANTELATTO *et al*, 2016). Este gênero inclui espécies dulcícolas, dentre elas, a espécie *Macrobrachium rosenbergii* (camarão-da-Malásia) que possui maior destaque na produção comercial graças às suas características como alta fertilidade e fecundidade, rápido crescimento e ser onívora, aceitando uma variedade de opções para alimentação (RIBEIRO & LOGATO, 2002).

É um camarão exótico, originário dos países do Indo-Pacífico (Malásia, Índia e Vietnã,), o qual, em meados de 1977 foi introduzido no Brasil para estudos e em 1983 foi utilizado para um laboratório comercial de produção de pós-larvas (VALENTI, 1998). A produção dessa espécie representa uma excelente alternativa econômica para pequenos e médios produtores rurais, além de apresentar boa aceitação do produto no mercado consumidor (SEBRAE, 2015). De acordo com Riberio & Logato (2002) essa espécie possui respostas satisfatórias em cativeiro, respondendo positivamente a alimentação artificial, oferecida na forma de ração comercial e balanceada de acordo com as necessidades nutricionais de cada fase, sendo para camarões juvenis (fase inicial de criação) 35% de proteína bruta e para fase de crescimento e final (engorda) 32% de proteína bruta.

Em sistemas de produção, é importante seguir requisitos básicos, tanto em relação ao manejo alimentar com elevados níveis de proteína, quanto ao monitoramento e controle da qualidade de água, para assim atingir bons níveis de produtividade (QUEIROZ, 2012). As formas nitrogenadas que ocorrem naturalmente no ambiente aquoso e que podem causar danos significativos são a amônia, nitrito e nitrato (CAMPOS *et al*, 2012). Parte da proteína ofertada é convertida em proteína animal e outra parte, não assimilada é excretada principalmente na forma de amônia (ARANA, 2010). De acordo com CAMPOS et al (2012), a amônia está presente na forma ionizada (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) e não ionizada (NH<sub>3</sub>), as quais juntas constituem a amônia total (NH<sub>4</sub><sup>+</sup> + NH<sub>3</sub>).

O nitrito, por sua vez, é um composto intermediário no processo de nitrificação bacteriana, em que a amônia é oxidada por bactérias nitrificantes (*Nitrobacter sp.*) para nitrito e em seguida para nitrato (DUTRA, 2017). Essas três formas de compostos nitrogenados presentes no ambiente aquático possuem diferentes graus de toxicidade aos animais, causando danos significativos e podendo

provocar mortalidade dos organismos cultivados. Assim, é de extrema relevância realizar estudos que demonstrem o efeito desses compostos sobre os animais aquáticos e buscar maneiras para minimizar a toxicidades destes. Conforme Hodgson (2010), uma maneira para conseguir essas informações é através de estudos de toxicidade aguda com base da avaliação da CL50 (concentração letal mediana).

Fatores extrínsecos como temperatura, amônia ambiental e salinidade podem afetar a absorção e excreção de amônia nos camarões (REGNAULT, 1987). As células presentes nas brânquias dos crustáceos possuem sítios de absorção de amônia e Na<sup>+</sup> localizados na mesma região celular, podendo assim, sofrer interferências e reduzir a toxicidade da amônia. Enzimas presentes nesses locais, como a (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>)-ATPase, estabelecem gradientes que conduzem vários processos de transporte da membrana celular. Animais que habitam meios de água doce e salobra desenvolveram mecanismos que regulam em sua hemolinfa concentrações de Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> e consequentemente sua captação de íons (LEONE *et al*, 2014).

Dessa forma, alguns animais ao serem expostos a habitats com diferentes concentrações de salinidade podem ter selecionado mecanismos de excreção ativa de amônia através da estimulação sinérgica dos sítios de absorção de amônia e Na<sup>+</sup>, determinados pela enzima (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>)-ATPase (LEONE *et al* , 2014). Esses mecanismos podem ser vantajosos por bombear a amônia contra o gradiente de concentração nesses ambientes. Assim, tentativas para estimular esses processos de regulação são válidas para melhorar ainda mais a tolerância dos animais aos fatores que os prejudicam.

Ainda sobre efeitos da salinidade em organismos aquáticos, um estudo realizado por Sampaio & Bianchini (2002) demonstrou que a salinidade equivalente ao ponto isosmótico varia de 10 a 12 % e quando expostos a esse ponto isosmótico, os peixes poupam energia para outros processos, pois os custos relacionados à osmorregulação são minimizados. Também, Weirich & Riche (2006) demonstraram que o aumento da salinidade minimiza a ação tóxica do NH³ para várias espécies aquáticas.

Pesquisas realizadas em diferentes espécies de crustáceos decápodes demonstram que a excreção de compostos nitrogenados é bastante afetada por diferentes níveis de salinidade. No entanto, estudos sobre o efeito letal da amônia em diferentes níveis de salinidade nos camarões são escassos (LEE & CHEN, 2003).

#### 3. METODOLOGIA

O trabalho experimental foi conduzido no Laboratório de Carcinicultura, localizado no Núcleo de pesquisa e Desenvolvimento em Aquicultura Sustentável (NPDA) da Universidade Federal do Paraná – Setor Palotina (UFPR-Palotina). As pós larvas foram oriundas do processo de larvicultura realizado no próprio laboratório. O método utilizado na avaliação da relação direta da salinidade com o efeito toxicológico da amônia total foi baseada na metodologia utilizada por Peltier & Weber (1985) para CL<sub>50</sub>-96 h (teste de toxicidade aguda). Nos bioensaios, foram utilizados 540 pós larvas de *Macrobrachium rosenbergii*, com peso médio de 0,13 gramas e comprimento total médio de 2,47 centímetros, estocados em 54 unidades experimentais de dois litros. Os animais foram alojados individualmente em subunidades plásticas perfuradas para evitar competição e canibalismo. Em cada unidade, foi utilizado aeração constante com pedra porosa, ambiente climatizado controlado dentro da faixa ideal para a espécie, respeitando a densidade de 5:1 (indivíduos por litro) e fotoperíodo de 12:12 horas, alternado entre períodos claros e escuros. Ademais, os animais permaneceram em jejum durante o experimento.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em desenho fatorial de 3x6, sendo combinadas três salinidades (0, 5 e 10 g/L) com seis concentrações de amônia total (0, 8, 16, 32, 64 e 128 mg.L<sup>-1</sup> N-NH<sub>3</sub>), sendo que para cada combinação haviam três repetições. As concentrações de amônia total utilizadas no experimento tiveram como base a CL<sub>50</sub>-96h determinada por Dutra *et al*, (2016).

A concentração de amônia total foi obtida através de uma solução estoque de 1.000 mg.L<sup>-1</sup> de amônia total, diluindo 3,819 g.L<sup>-1</sup> de cloreto de amônio P.A (ANIDROL) em água destilada e posteriormente diluída em água do abastecimento público previamente desclorada, obtendo-se, assim, as concentrações escolhidas para o experimento. Para cada concentração salina utilizada no experimento, foi elaborado uma solução estoque de 40 litros. Para obtenção de 5 g/L nessa solução estoque, foi diluído 200 gramas de sal (SAL: FISH ONLY – NUTRZOO); já para 10 g/L foi diluído 400 gramas de sal. O sal foi pesado em uma balança de precisão (MARTE/SHIMADZU MOD AY-220 – CAP 220g X 0,01g). Posteriormente, essa solução estoque de 40 litros foi utilizada para o abastecimento das unidades experimentais.

O método utilizado para avaliação da mortalidade dos camarões foi a ausência de reação após estímulo mecânico e alteração da coloração normal do animal, tornando-se esbranquiçado após sua morte. As pós-larvas foram observadas de hora em hora, nas primeiras oito horas de experimento. Após oito horas de experimentação, as observações aconteceram num intervalo de três em três horas, totalizando 96 horas. Esse período de três em três horas foi escolhido em virtude da preservação do

animal após a morte para futuros estudos histológicos das brânquias, assim esse período era o tempo máximo que o animal poderia ser retirado antes que iniciasse sua decomposição. Para essa conservação, assim que notada a morte, os animais eram retirados de suas subunidades e colocados em Tubos de ensaio de plástico SNAP identificados, contendo solução de ALFAC para sua fixação (BONDAD-REANTASO *et al*, 2001) por 24 horas. Posteriormente, as pós-larvas foram trocadas para solução com álcool 70% (DEUS *et al*, 2011).

### 3.1 ANÁLISE DE VARIÁVEIS DE ÁGUA

Para determinar que as variáveis de qualidade de água se mantivessem nos níveis favoráveis para a espécie, foi avaliado diariamente o oxigênio dissolvido (Oxímetro Microprocessado ALFAKIT AT-160), a temperatura (termômetro digital Inconterm) e o pH (pHmetro Luca 210). Para confirmar que as concentrações de amônia total permaneceram dentro do proposto, no início e fim do experimento, foram coletados 200 ml de água de cada unidade experimental em garrafas plásticas e encaminhado para Laboratório de Qualidade de Água e Limnologia da UFPR-Palotina. No qual, foi realizado a mensuração das concentrações de amônia total através do método colorimétrico indofenol (GRASSHOFF; KREMLING; EHRHARDT, 1999), nitrito pelo método colorimétrico da reação de Griess (BAUMGARTEN; BAPTISTA; NIENSCHESKI, 1996), nitrato, alcalinidade e dureza por titulação seguindo a metodologia proposta por Macêdo (2003).

#### 3.2 BIOMETRIA

A coleta dos dados biométricos dos animais foi realizada antes de colocá-los em suas subunidades experimentais. Para isso, estes foram pesados em uma balança de precisão (MARTE/SHIMADZU MOD AY-220 – CAP 220g X 0,01g) para obtenção do peso total e medidos, em um paquímetro cm (ZAAS), para determinar o comprimento total (CT = medida entre a extremidade anterior do rostro e a extremidade posterior do telson), seguindo a metodologia descrita por Oliveira *et al* (2014).

## 3.3 ESTATÍSTICA

As CL`s<sub>50</sub>, para pós larvas de *M. rosenbergii*, em 24, 48, 72, 96 h, e seus respectivos intervalos de confiança (95%), foram estimadas através do "software" Trimmed Spearman Karber method (HAMILTON; RUSSO; THURSTON, 1977). A quantidade de amônia não ionizada foi calculada de acordo com a fórmula proposta por Ostrensky, Marchiore e Poersch (1992), baseada na salinidade, temperatura e a média dos valores de pH obtida em cada experimento.

## 4. ANÁLISES E DISCUSSÕES

As concentrações de amônia total encontradas corresponderam próximas das concentrações desejadas para efetuação do teste de toxicidade aguda. Os valores de oxigênio dissolvido, temperatura, pH, dureza e alcalinidade, referentes à qualidade de água permaneceram dentro do recomendado para produção da espécie durante todo o período experimental (Tabela 1).

Tabela 2 - Valores médio (±DP) encontrados e recomendados das variáveis de qualidade de água para juvenis de *Macrobrachium rosenbergii* expostos a amônia total e salinidade durante 96 h.

Tratamento				Análises das variáveis de qualidade de água															
Amônia total	Salinidade	Amônia		Temperatura			рН		OD		Dureza			Alcalinidade					
$(mg.L^{-1})$	(g/L)	$(mg.L^{-1})$		(°C)						$(mg.L^{-1})$			$(mg.L^{-1})$			$(mg.L^{-1})$			
0	0	1,31	±	0,30	25,58	± 0,	,38	8,24	±	0,10	6,54	±	0,68	60,00	±	11,35	72,67	±	8,33
8	0	8,59	±	0,49	25,50	± 0,	,36	8,06	±	0,08	6,65	±	0,81	54,50	<u>±</u>	7,71	59,17	±	4,75
16	0	16,32	±	1,40	25,66	± 0,	,33	7,96	±	0,06	6,52	±	0,88	57,33	<u>±</u>	13,26	52,67	±	12,26
32	0	30,74	±	1,77	25,53	± 0,	,39	7,74	±	0,09	6,62	±	0,83	57,17	±	4,45	60,67	±	45,16
64	0	74,92	±	11,23	24,92	± 0,	,54	7,07	±	0,94	6,89	±	0,53	58,83	±	10,89	43,83	±	26,51
128	0	166,51	±	16,35	25,51	± 0,	,43	7,50	±	0,56	6,73	±	0,51	57,17	±	8,35	42,67	±	27,75
0	5	1,38	±	0,31	25,53	± 0,	,43	8,21	±	0,09	6,17	±	0,79	941,00	±	236,13	107,83	±	39,82
8	5	8,51	±	0,89	25,58	± 0,	,40	8,08	<u>±</u>	0,13	6,27	±	0,87	965,83	±	248,14	92,83	±	19,49
16	5	15,92	±	2,40	25,43	± 0,	,43	8,01	±	0,06	6,53	±	0,79	846,00	±	94,22	76,17	±	17,07
32	5	27,57	±	2,96	25,38	± 0,	,37	7,82	±	0,13	6,23	±	0,91	855,83	±	94,61	70,67	±	27,14
64	5	73,77	±	7,92	25,38	± 0,	,25	7,48	±	0,38	6,84	±	0,45	636,33	±	83,08	51,83	±	35,24
128	5	155,37	±	24,31	25,33	± 0,	,43	7,23	±	0,59	7,05	±	0,50	593,50	±	79,98	49,00	±	35,13
0	10	1,21	±	0,36	25,50	± 0,	,39	8,23	±	0,07	6,86	±	0,51	1.321,83	±	92,67	134,83	±	39,09
8	10	8,42	±	0,80	25,63	± 0,	,43	8,15	±	0,06	6,75	±	0,47	1.363,50	±	63,70	106,50	±	8,02
16	10	17,32	±	1,20	25,54	± 0,	,33	8,12	±	0,04	6,90	±	0,49	1.368,33	±	36,32	92,17	±	19,83
32	10	29,69	±	1,52	25,59	± 0,	,40	7,90	±	0,09	6,77	±	0,41	1.346,17	±	26,33	83,83	±	19,74
64	10	73,32	±	8,51	25,54	± 0,	,21	7,28	<u>±</u>	0,72	7,05	±	0,52	1.081,67	±	187,80	59,67	±	45,28
128	10	167,56	±	7,92	25,34	± 0,	,43	7,41	±	0,55	7,05	±	0,34	1.150,50	±	104,31	87,83	±	16,88
Valor recomendado*					24	24 - 29		7,4 8,4		> 4			35 - 120			20 - 150			

No decorrer do experimento, foi observado que pós-larvas de *M. rosenbergii* expostas à concentrações de 128 mg/L de amônia total em 10 g/L de salinidade apresentaram mortalidades de 100% em 24 horas. A mortalidade mediana em 0 g/L de salinidade foi de 3,3; 16,7 e 93,3%, respectivamente, observadas nas concentrações 8, 64 e 128 mg/L de amônia total, em 96 horas de exposição. Já em 5 g/L, foi constatado 3,3; 26,6 e 86,66% de mortalidade na devida ordem de 8, 64 e 128 mg/L, e por fim, em 10 g/L os valores de mortalidade foram maiores, resultando em 6,6; 3,3; 6,6; 43,3 e 100% respectivamente nas concentrações de amônia total de 8, 16, 32, 64 e 128 mg/L.

A partir das mortalidades observadas em cada salinidade, foram estimadas a concentração letal mediana (CL50 96h) de amônia total calculada para 24, 48, 72, 96 horas, o intervalo de confiança e o nível de segurança, por meio do "software" Trimmed Spearman Karber method. Os resultados encontram-se sumarizados na Tabela 2.

Tabela 2 – Valores de CL50 de amônia para pós larvas de *M. rosenbergii* e seus respectivos intervalos de confiança.

Salinidade	Horas	CL <sub>50</sub> (mg.L <sup>-1</sup> de amônia)	Intervalo de confiança CL50 (mg.L <sup>-1</sup> de amônia)	Nível de segurança (mg.L <sup>-1</sup> de amônia)		
	24	-	-			
	48	90,51	84,63 – 96,79	9,05		
0	72	86,80	77,41 – 97,33	8,68		
	96	84,54	75,00 – 95,30	8,45		
	24	97,01	87,20 – 107,92	9,70		
5	48	82,35	68,68 – 98,73	8,23		
	72	82,35	68,68 – 98,73	8,23		
	96	82,23	68,69 – 98,45	8,22		
	24	70,20	61,48 - 80,15	7,02		
10	48	64,00	55,59 – 73,69	6,40		
	72	62,54	53,96 – 72,48	6,25		
	96	51,41	36,96 – 71,51	5,14		

Fonte: Arquivo pessoal (2019).

Os resultados obtidos no presente estudo para CL50-96h de amônia total foram maiores que os dados encontrados por Chen & Lin (1992) para *P. chinensis* também expostos a salinidade de 10 g/L. Vemos que a CL50 em 10 g/L de salinidade teve um acréscimo, passando de 28,18 para 51,41 mg.L<sup>-1</sup>. Este resultado corrobora com o afirmado por Baldisserotto (2013), cuja afirma que animais marinhos são mais sensíveis à NH<sub>3</sub> que os de água doce.

Porém, ao comparar a CL50-96h em 0 g/L e 10 g/L do presente estudo, foi possível evidenciar uma redução nos valores, passando de 84,57 para 51,41 mgL<sup>-1</sup>. Isto significa que o aumento da salinidade foi prejudicial para *M. rosenbergii*, pois aumentou a toxicidade da amônia. Quanto menor o valor da CL50, mais fatal foi para o animal, pois a pouca concentração já gera mortalidade em 50% dos camarões (DUTRA, 2017).

Jiang et al. (2000), evidenciaram em um estudo que a medida que a salinidade aumenta, a excreção de amônia diminui, passando de 66,82% de excreção em 10 g/L para 61,93% de excreção em 40 g/L. A redução da excreção de amônia pelos organismos aquáticos leva ao acúmulo desse metabólito nos tecidos e, consequentemente, a mortalidade devido a sua toxicidade (BALDISSEROTTO, 2013). Isto pode explicar os resultados obtidos no presente experimento, onde a unidade experimental sem salinidade (0 g/L) a toxicidade da amônia foi menor pois a CL50-96 horas foi menor quando comparada com a CL50-96h de 10 g/L. Portanto, com maiores salinidades, a excreção de amônia foi menor, sendo acumulada e atingindo níveis tóxicos.

Também, este resultado corrobora com o observado por Chen & Chia (1996), que demonstraram uma relação inversa entre a excreção de amônia e a salinidade no caranguejo de lama *Scylla serrata*. Estudos realizados com outras espécies de camarões relatam que a excreção de amônia aumenta quando os animais estão hiper-regulados (CHEN *et al*, 1994; LEE & CHEN, 2003) ou seja, em um ambiente com baixa concentração de íons (como NaCl<sup>-</sup>) e diminui quando estão hipo-regulados (em ambientes com níveis altos de íons).

O nível elevado de amônia gera efeitos tóxicos ligados ao metabolismo e diminuição da imunidade inata dos camarões, ocasionando uma série de disfunções fisiológicas como: desequilíbrio iônico, complicação na muda, atraso no crescimento, distúrbios nervosos, dificuldades no metabolismo respiratório e, por fim, um aumento significativo da mortalidade (SILVA, 2018).

Outra questão que pode ser pautada é a osmorregulação. A adaptação de uma espécie aquática à mudança de salinidade implica a sua capacidade de alterar seus mecanismo de transporte de íons e a permeabilidade à água nas brânquias e intestino, de modo a minimizar as

alterações iônicas plasmáticas (MOYES & SCHULTE, 2005). Baldisserotto (2013) afirma que em peixes de água doce, a exposição a meios mais concentrados desidrata as células branquiais, as quais encolhem, afetando a integridade das junções entre as células, o que leva a um aumento de permeabilidade, ocasionando uma maior entrada de íons e perda de água.

Além disso, o organismo precisa ao mesmo tempo se ajustar a outras variações ambientais, como concentração de oxigênio dissolvido, pH e temperatura, que geralmente se alteram junto com a salinidade (BALDISSEROTTO, 2013). Assim, por mais que espécies eurialinas suportam flutuações de osmolaridade/salinidade, a transferência de uma espécies eurialina para uma salinidade muito diferente daquela à qual ela está adaptada geralmente implica uma alteração transitória dos níveis iônicos e concentração osmótica plasmática, o que resulta em altos níveis de estresse para o animal (BALDISSEROTTO, 2013).

A combinação da menor taxa de excreção de amônia (sendo esta acumulada no organismo) com a elevada taxa metabólica basal para osmorregulação quando submetidos a 10 g/L de salinidade, resultaram em um grande estresse para *M. rosenbergii*, o qual foi prejudicial para os mesmos.

Por mais que a salinidade exerça um considerável efeito na concentração interna de amônia, o sódio (Na<sup>+</sup>) tem uma afinidade menor do que NH<sub>4</sub> para a enzima responsável pelo transporte ativo para o meio intracelular (SILVA, 2018), sendo assim, os sítios de absorção não possuem muita interferência na toxicidade da amônia. Porém, mais estudos devem ser realizados para obter melhores respostas sobre esses mecanismos nos camarões de água doce.

# 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados encontrados no presente estudo demonstraram que concentrações de 10 g/L de salinidade não diminuíram a toxicidade água da amônia no *Macrobrachium rosenbergii*. Verificou-se que ocorreu o oposto, pois o aumento da salinidade resultou em um prejuízo para o animal, causando teoricamente um estress e assim aumentando a toxicidade da amônia. No entanto, deve-se realizar mais pesquisas buscando meios de diminuir a toxicidade de compostos nitrogenados, como a amônia, que estão naturalmente nos meios de cultivo e causam grandes perdas econômicas.

## REFERÊNCIAS

- ARANA, L. V. **Qualidade da água em aquicultura princípios e práticas.** Florianópolis: UFSC, 2010.
- ARIAS, R. A. **CARCINICULTURA.** Instituto Federal do Paraná, Curitiba (PR), 2011. BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia de peixes:** aplicada à piscicultura. 3ª edição. Santa Maria: Ed. UFSM, 2013.
- BAUMGARTEN, M. G. Z.; BAPTISTA, J. M. R.; NIENSCHESKI, L. F. H. Manual de análises em oceanografia química. Ed. Furg. Rio Grande: 1996.
- BONDAD-REANTASO, M. G.; MCGLADDERY, S. E.; EAST, I.; SUBASINGLE, R. P. **Asia Diagnostic Guide to Aquatic Animal Diseases**. FAO Fisheries Technical Paper N. 402, Supplement 2. Rome, 2001.
- BOOS, H.; PINHEIRO, M. A. A.; MAGRIS, R. A. O processo de avaliação do risco de extincap dos crustáceos no Brasil: 2010-2014. Livro Vermelho dos Crustáceos do Brasil: avaliação 2010-2014, p. 28-34. Porto Alegre, 2016.
- CAMPOS, B. R.; FILHO, K. C. M.; D'INCAO, F.; POERSCH, L.; WASIELESKY, W. **Toxicidade aguda da amônia, nitrito e nitrato sobre os juvenis de camarão-rosa** *Farfantepenaeus brasiliensis* (**Latreille, 1817**) (**Crustacea: Decapoda**). Revista Atlântica, Vol. 34, n. 1, p. 75-81. Rio Grande, 2012.
- CHEN, J. C.; CHIA, P. G. **Hemolymph ammonia and urea and nitrogenous excretions of Scylla serrata at different temperature and salinity levels**. Marine Ecology Progress Series. Vol. 139, p. 119 125. Taiwan, 1996.
- CHEN, J.; CHEN, C. T.; CHENG, S. Y. Nitrogen excretion and changes of hemocyanin, protein and free amino acid levels in the hemolymph of Penaeus monodon exposed to different concentrations of ambient ammonia-N at different salinity levels. Marine Ecology Progress Series. Vol. 110, p. 85 94. Taiwan, 1994.
- CHEN, J. C.; LIN, C. Y. Lethal effects of ammonia on *Penaeus chinensis* Osbeck juveniles at different salinity levels. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. Vol. 156, p. 139-148. 1992.
- DEUS, A. C. R. *et al.* **Guia Nacional De Coleta E Preservação De Amostras:** Água, Sedimento, Comunidades Aquáticas E Efluentes Líquidos. Agência Nacional de Águas ANA. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo CETESB. Brasília, 2011.
- DUTRA, F. M.; FORNECK, S. C.; BRAZÃO, C. C; FREIRE, C. A.; BALLESTER, E. L. C. Acute toxicity of ammonia to various life stages of the Amazon river prawn, *Macrobrachium amazonicum*, Heller, 1862. Ed. Elsevier. **Aquaculture** n.453, p. 104-109. 2016.
- DUTRA, F. M. Efeito da amônia e nitrito sobre pós larvas, juvenis e adultos do camarão-da-amazônia Macrobrachium amazonicum (Heller, 1862). 2017. Tese (Pós-graduação em Ciências Biológicas Zoologia) Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, Palotina.

- FAO Food and Agriculture Organization of the United Nations. **The State of World Fisheries and Aquaculture**. Rome, 2012.
- FAO Food and Agriculture Organization of the United Nations. **The State of World Fisheries and Aquaculture** Innovation in family farming. Rome, 2014.
- FAO Food and Agriculture Organization of the United Nations. **The State of World Fisheries and Aquaculture -** Contributing to food security and nutrition for all. Rome, 2016.
- FAO Food and Agriculture Organization of the United Nations. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2018 -** Meeting the sustainable development goals. Rome, 2018.
- GRASSHOFF, K.; KREMLING, K.; EHRHARDT, M. Methods of Seawater Analysis: Third, Completely Revised and Extended Edition. Ed. Wiley-VCH. Toronto, 1999.
- HAMILTON, M. A.; RUSSO, R. C.; THURSTON, R. V. **Trimmed Spearman Karber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays**. Environmental Science Technology. Vol. 11, n.7, p. 714-719. 1977.
- HODGSON, E. **A Textbook of Modern Toxicology.** 4<sup>a</sup> edition. North Carolina: John Wiley & Sons, 2010.
- JIANG, D. H.; LAWRENCE, A. L.; WILLIAM, H, N.; GONG, H. Effects of temperature and salinity on nitrogenous excretion by *Litopenaeus vannamei* juveniles. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. Vol. 253, p. 193 209. 2000.
- LEE, W. C.; CHEN, J. C. Hemolymph ammonia, urea and uric acid levels and nitrogenous excretion of *Marsupenaeus japonicus* at different salinity levels. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. Vol. 288, p. 39 49, 2003.
- LEONE, F. A.; BEZERRA, T. M. S.; GARÇON D. P.; LUCENA, M. N.; PINTO, M. R.; FONTES, C. F. L. et al. Modulation by K<sup>+</sup> Plus NH<sub>4</sub><sup>+</sup> of Microsomal (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>)-ATPase Activity in Selected Ontogenetic Stage of the Diadromous River Shrimp *Macrobrachium amazonicum* (Decapoda, Paleomonidae). PLoS ONE 9(2), 2014.
- MACÊDO, J. A. B. **Métodos Laboratoriais de Análises Físico-Químicas e Microbiológicas -** 2ª edição. Belo Horizonte: CRQ-M.G, 2003.
- MANTELATTO, F. L. *et al.* **Avaliação dos camarões Palemonídeos (Decapoda: Palaemonidae)**. Livro Vermelho dos Crustáceos do Brasil: avaliação 2010-2014, p. 252-260. Porto Alegre, 2016.
- MARTÍN, F. E.; FEDERICO, P. O. **Toxicidad de los compuestos del nitrógeno em camarones**. Camaronicultura y Medio Ambiente El Colegio de Sinaloa, UNAM Universidad Nacional Autónoma de México, p. 224-242, 2001.
- MOYES, C. D.; SCHULTE, P. M. **Princípios de fisiologia animal.** 2ª edição. Brasil: Ed. Artmed, 2010.

- NEW, M. B.; VALENTI, W. C. Freshwater Prawn Culture: The Farming of *Macrobrachium Rosenbergii*. Wiley-Blackwell, 2001.
- NEW, M.B. VALENTI, W.C.; TIDWELL, J. H.; D'ABRAMO, L. R.; KUTTY, M. N. Freshwater Prawns: Biology and Farming. Wiley-Blackwell, Oxford, 2010.
- OLIVEIRA, V. S.; RAMOS-PORTO, M.; SANTOS, M. C. F.; HAZINI, F. H. V.; CABRAL, E.; ACIOLE, F. D. Características biométricas, distribuição e abundância relativa do camarão *Plesionika edwardsii* na costa nordeste do Brasil. Bol. Inst. Pesca. Vol. 40(2), p. 215 222. São Paulo, 2014.
- OSTRENSKY, A.; MARCHIORE, M. A.; POERSCH L. H. **Toxicidade aguda da amônia no processo produtivo de pós-larvas de** *Penaeus paulensis* **Perez-Farfante, 1967.** An. Acad. Bras. Cien., 64(4). p. 383-389. 1992.
- PELTIER, W. H.; WEBER, C. I. Methods for measuring the acute toxicity of effluents to freshwater and marine organisms. 1985.
- QUEIROZ, J. F. Boas práticas aquícolas (BPA) em viveiros garantem sucesso da produção. Embrapa Meio Ambiente, p. 36–39, 2012.
- REGNAULT, M. NITROGEN EXCRETION IN MARINE AND FRESH-WATER CRUSTACEA. França, 1987.
- RIBEIRO, P. A. P.; LOGATO, P. V. R. **CRIAÇÃO DE CAMARÕES DE ÁGUA DOCE** (*Macrobrachium rosenbergii*). Minas Gerais UFLA, 2002.
- ROCHA, I. P. Aumentar a produção para atender a crescente demanda interna, com um olhar atento no promissor mercado internacional. **Revista da ABCC Associação Brasileira de criadores de camarão**. Natal Rio Grande do Norte, n.2, p. 22-28, novembro de 2014.
- ROCHA, I. P. Setor Carcinícola, Aquícola e Pesqueiro: Potencialidades, Desafios e Oportunidades para uma Efetiva Contribuição com o Fortalecimento da Sócia Economia Pesqueira do Brasil. **Revista da ABCC Associação Brasileira de criadores de camarão**. Natal Rio Grande do Norte, n.2, p. 6-16, novembro de 2018.
- SAMPAIO, L. A.; BIANCHINI, A. **Salinity effects on osmoregulation and growth of the euryhaline flounder Paralichthys orbignyanus.** Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, p. 187 196, 2002.
- SEBRAE. Aquicultura no Brasil série de estudos mercadológicos. Brasília DF, 2015. SILVA, A. M. Efeitos tóxicos de amônia, nitrito e nitrato em palemonídeos: revisão bibliográfica. Palotina, 2018.
- STOKSTAD, E. **DOWN ON THE SHRIMP FARM.** AAAS American Association for the Advancement of Science. Science Vol. 328, p. 1504-1505, 2010.
- TAVERES-DIAS, M.; MARIANO, W. S. **Aquicultura no Brasil: Novas Perspectivas.** Vol. 2. Pedro & João Ed. São Carlos São Paulo, 2015.

VALENTI, W. C. Carcinicultura de água doce: Tecnologia para a produção de camarões. Ed. Brasília: IBAMA / FAPESP,1998.

WEIRICH, C. R.; RICHE, M. Acute tolerance of juvenile Florida pompano, Trachinotus carolinus L., to ammonia and nitrite at various salinities. Aquaculture Research, p. 855–861, 2006.